

LES TÈCNiques DE REPRODUCCIó ASSISTIDA PROVOQUEN ALTERACIONS EN ELS EMBRIONS?

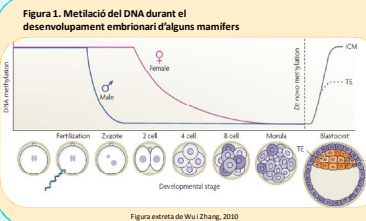
Marta Ribera Pérez
4rt., Grau en Biologia
Curs 2014 – 2015

Tutora: Francesca Vidal Domínguez

INTRODUCCIó

Des del primer naixement obtingut a través de fecundació *in vitro* (FIV) de Louis Brown l'any 1978, més de 5 milions d'infants han nascut arreu del món gràcies a la reproducció assistida. Actualment, les tècniques de reproducció assistida (TRAs) són pràctiques mèdiques rutinàries per superar la infertilitat. Els naixements d'infants concebuts amb TRAs representen més de l'1% en molts països europeus. Tot i que es consideren tècniques segures, l'augment cada vegada més accentuat de parelles que s'hi sotmeten ha creat la necessitat d'investigar si poden tenir repercussions en la salut del noutat.

EPIGENÈTICA Estudia els canvis heretables que no depenen de la seqüència de bases del DNA. Les alteracions epigenètiques estan associades al desenvolupament de certes malalties.



L'epigenoma és el conjunt de modificacions en la compactació del DNA. Joga un paper fonamental en la diferenciació cel·lular durant el desenvolupament embrionari, juntament amb les metilacions d'aquesta molècula.

Abans de la combinació dels dos genoms parentals (zigot) es produeix una desmetilació molt ràpida del DNA patern. El DNA matern es desmetel·la de forma progressiva fins l'estadi de blastocist. En aquest darrer estadi es produeix un procés de diferenciació que dona lloc a la massa cel·lular interna (ICM) i el trofoblaste (TE).

Imprinting genòmic

Fenomen epigenètic que fa que l'expressió d'un gen estigui determinada pel seu origen parental, de manera que només s'expressa un dels dos al·lels del gen afectat per aquest factor.

És un procés controlat per la metilació del DNA (Dennis, 2003):

- Seqüències metilades → Transcripcionalment inactives
- Seqüències desmetilades → Transcripcionalment actives

La perturbació dels gens d'imprinting pot provocar anomalies genètiques estranyes com la síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS), la síndrome d'Angelman (AS), la síndrome de Silver-Russell (SRS) i la síndrome de Prader-Willi (PWS). La majoria corresponen a síndromes de restricció del creixement intrauterí (IUGR).

La importància dels gens d'imprinting en el control del desenvolupament fa pensar en la possibilitat que les TRAs puguin induir aquestes alteracions epigenètiques a través de la manipulació artificial dels gàmetes i embrions.

OBJECTIUS

- Trobar estudis que demostrin que les TRAs provoquen o no certes malalties o defectes congènits.
- Conèixer quines són aquestes malalties i les causes que podrien provocar-les.

És perillós manipular els gàmetes i els embrions que donaran lloc a un infant?

Es pot afirmar amb seguretat que les TRAs comporten un risc major en la salut dels noutats del que s'esperaria amb una gestació natural?

METODOLOGIA

Recerca i revisió bibliogràfica d'articles o altres fonts relacionades amb el tema.

- Cerca d'articles amb PubMed
- Organització dels articles amb Mendeley
- Consulta de dubtes mèdics amb MedlinePlus

Paraules clau:

- assisted reproduction
- epigenetics
- imprinting disorders
- Beckwith-Wiedemann
- Silver-Russell
- Prader-Willi
- Angelman

- Memòria → Microsoft Office Word 2007
- Pòster → Microsoft Office PowerPoint 2007

RESULTATS

TAULA 1. Desordres en l'imprinting genòmic relacionats amb les TRAs

Malaltia	Prevalença en la població	Increment associat a TRAs, respecte la prevalença	Referències
Síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS)	1/13.700 (1/287.000 japonesos, segons Hiura <i>et al.</i> , 2012)	>4% (8,6%, segons Hiura <i>et al.</i> , 2012)	DeBaun <i>et al.</i> , 2003 Gicquel <i>et al.</i> , 2003 Maher <i>et al.</i> , 2003 Sutcliffe <i>et al.</i> , 2006 Hiura <i>et al.</i> , 2012 Tee <i>et al.</i> , 2013
Síndrome d'Angelman (AS)	1/10.000 – 1/20.000 (1/134.000 japonesos, segons Hiura <i>et al.</i> , 2012)	Molt petit Nul	Cox <i>et al.</i> , 2002 Maher <i>et al.</i> , 2003 Sutcliffe <i>et al.</i> , 2006 Hiura <i>et al.</i> , 2012
Síndrome de Silver-Russell (SRS)	No es coneix de forma precisa (1/392.000 japonesos, segons Hiura <i>et al.</i> , 2012)	Molt petit o nul 9,5%	Blek <i>et al.</i> , 2006 Amor i Halliday, 2008 Chopra <i>et al.</i> , 2010 Hiura <i>et al.</i> , 2012
Síndrome de Prader-Willi (PWS)	1/25.000 (1/62.000 japonesos, segons Hiura <i>et al.</i> , 2012)	Nul	Sutcliffe <i>et al.</i> , 2006 Amor i Halliday, 2008 Hiura <i>et al.</i> , 2012

Sembla que la majoria d'autors coincideixen en que l'increment més gran en la prevalença de la població degut a les TRAs es dona amb la BWS, exceptuant l'increment del 9,5% en la prevalença de SRS que només es dona en l'estudi de Hiura *et al.*, 2012. Tot i així, la majoria d'ells coincideixen en que els increments són tan petits que no són significatius.

TAULA 2. Altres malalties relacionades amb les TRAs

Malaltia	Increment significatiu associat a TRAs	Referències
Diabetis mellitus neonatal transitoria (TNDM)	No s'hi observa (3%, aproximadament)	Sutcliffe <i>et al.</i> , 2006
Càncers infantils, especialment rhabdomyosarcoma, hepatoblastoma i retinoblastoma	No s'hi observa	Maher <i>et al.</i> , 2005 Foix-Hélias <i>et al.</i> , 2012 Tee <i>et al.</i> , 2013 Williams <i>et al.</i> , 2013
Problemes cardiovasculars	S'hi observen	Pontesilli <i>et al.</i> , 2014 Valenzuela-Alcaraz <i>et al.</i> , 2014
Trastorns de l'espectre autista (TEA)	No s'hi observen	Ackerman <i>et al.</i> , 2014
Nombre de cèl·lules embrionàries i pesos anormals dels nadons	S'hi observa	Dumoulin <i>et al.</i> , 2010 Nélissen <i>et al.</i> , 2012 Vergow <i>et al.</i> , 2012

En general, no s'ha trobat relació entre les TRAs i les malalties esmentades a la taula. Els estudis amb casos de càncers infantils, TEA i TNDM conclouen que els resultats no són significatius. Els estudis que associen les TRAs amb problemes cardiovasculars sí conclouen que hi ha una relació. També es creu que aquestes tècniques influeixen en el nombre de cèl·lules embrionàries i el pes dels nadons.

DISCUSSIó

• S'observa un increment molt baix de defectes epigenètics en les TRAs. La malaltia amb la qual s'observa més increment és la síndrome de Beckwith-Wiedemann (increments de més del 4% en alguns estudis).

• Si hi hagués un increment de malalties epigenètiques associat a les TRAs, aquestes comportarien defectes tant greus que serien incompatibles amb la supervivència embrionària. Això es relacionaria amb una menor eficiència de la tècnica perquè es detectarien com avortaments espontànies i no es comptarien com a casos de malalties associats a les TRAs.

• Hi ha estudis que conclouen que els infants concebuts mitjançant les TRAs no mostren variabilitat en la regulació de l'imprinting i que la pèrdua d'aquest fenomen no està associada a síndromes de restricció del creixement intrauterí o la prematuritat (Camprubi *et al.*, 2013).

Causes que poden explicar l'augment de malalties congènites associat a les TRAs:

- Patologia subjacent per la qual els pacients han de recórrer a la reproducció assistida, és a dir, defectes genètics que poden tenir els gàmetes dels progenitors.
- Els gàmetes poden ser immadurs, de manera que poden fallar-hi algunes marques d'imprinting.
- Procediments de la pròpia tècnica com el cultiu *in vitro* (DeBaun *et al.*, 2003), congelació i descongelació dels gàmetes i embrions, danys mecànics (ICSI, Intracytoplasmic Sperm Injection), etc.
- Alteració de la interacció del zigot o l'embrió amb l'ovoiducte. Pot implicar un canvi en la selecció d'aquests o alteracions dels processos fisiològics induïts al trànsit tubàric (Valenzuela *et al.*, 2005).

CONCLUSIONS

- No es pot afirmar amb seguretat que les TRAs provoquin alteracions en l'epigenoma causants de diferents trastorns.
- En la majoria dels estudis hi solen faltar comparacions amb nadons provinents de concepcions naturals, ja que en aquests no s'hi poden aplicar anàlisis tant fàcilment. Es requereixen més estudis per poder formar-nos una idea més exacta del que generen aquestes tècniques.
- La varietat de protocols de TRAs i la poca freqüència en què es donen aquests trastorns d'imprinting és una dificultat afegida amb la qual es troben aquests autors a l'hora d'investigar les repercussions de les TRAs i genera molta varietat d'opinions.
- Malgrat tot, els beneficis que aporten aquestes tècniques són tant grans que calen dades molt més fiables i irrefutables per poder afirmar que són perjudicials.

BIBLIOGRAFIA

- Ackerman, S., Wengert, J., Rettew, D., Althoff, R. i Bernier, R. No increase in autism-associated genetic events in children conceived by assisted reproduction. *Fertility and Sterility* 2014;102: 388-393.
- Amor, D. i Halliday, J. A review of known imprinting syndromes and their association with assisted reproduction technologies. *Human Reproduction* 2008;23: 2826-2834.
- Blek, J., Tefari, P., van den Bogard, M. J., Maas, S., Hamel, R., Salih-Benguiat, G., Simon, M., Lettboer, T., Van Der Smagt, J., Kiese, H. i Marrens, M. Hypomethylation of the H19 gene causes not only Silver-Russell syndrome (SRS) but also isolated asymmetrically or as SRS-like phenotype. *The American Journal of Human Genetics* 2006;78: 404-414.
- Camprubi, C., Iglesias-Pérez, I., Martín-Trujillo, A., Salazar-Arce, C., Rodríguez, M. A., Barrio, D. R., Court, F. i Múik, D. Stability of genomic imprinting and gestational age dynamic methylation in complicated pregnancies conceived following assisted reproductive technologies. *Biology of Reproduction* 2013;89: 50, 1-9.
- Chopra, M., Amor, D. J., Sutton, L., Algar, E. i Mowat, D. Russell Silver syndrome due to paternal H19/IGF2 hypomethylation in a patient conceived using intracytoplasmic sperm injection. *Reproductive Biomedicine Online* 2010;20: 843-847.
- Cox, G. F., Börgers, J., Up, V., Miao, U. A., Sperling, K., Wu, B. L. i Horsch, B. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *American Journal of Human Genetics* 2002;71: 162-164.
- DeBaun, M. R., Némethy, E. i Verheij, A. P. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of U11 and H19. *American Journal of Human Genetics* 2003;72: 156-160.
- Dennis, C. Epigenetics and disease: altered states. *Nature* 2003;421: 686-688.
- Dumoulin, J. C., Land, J. A., Van Montfort, A. P., Nélissen, E. C., Coenen, E., Derhaag, J. G., Schreurs, I. L., Dusemman, G. A., Kester, A. D., Gerards, J. B. i Evers, J. L. Effect of in vitro culture of human embryos on birthweight of newborns. *Human Reproduction* 2002;17: 602-612.
- Gicquel, C., Gaston, V., Mandelbaum, J., Siffroi, J. P., Flahault, A. i Le Bouc, Y. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCNQ1OT gene. *American Journal of Human Genetics* 2003;72: 1338-1341.
- Foix-Hélias, L., Artis, J., Marchand, L., Lumbroso-Le Rouic, L., Gauthier-Villars, M., Labrousse, P., Boyer, J., Doo, F. i Kaminski, M. Are children born after infertility treatment at increased risk of retinoblastoma? *Human Reproduction* 2012;27: 2196-2199.
- Huwa, W., Okazaki, H., Miyachi, N., Sato, F., Sato, A., Van De Pette, M., John, M., Kagami, M., Nakai, F., Sejima, H., Ohta, T. i Arima, T. Characterization of DNA methylation errors in patients with imprinting disorders conceived by assisted reproduction technologies. *Human Reproduction* 2012;27: 2541-2548.
- Maher, E. R., Brunton, L. A., Bowden, S. C., Lahr, A., Cooper, W., Cole, T. R., Macdonald, F., Sampson, J. R., Barratt, C. L., Reek, W., Hawkins, M. M. Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). *Journal of Medical Genetics* 2003;40: 62-64.
- Maher, E. R. Imprinting and assisted reproductive technology. *Human Molecular Genetics* 2005;14: 133-138.
- Nélissen, E. C., Van Montfort, A. P., Coenen, E., Derhaag, J. G., Gerards, J. B., Smith, L. J., Land, J. A., Evers, J. L. i Dumoulin, J. C. Further evidence that culture media affect prenatal outcome: Findings after transfer of fresh and cryopreserved embryos. *Human Reproduction* 2012;27: 1966-1976.
- Pontesilli, M., Painter, R. C., Groten, J. J., Van Der Post, J. A., Mol, B. W., Vrijlente, T. G. M., Repping, S. i Rosdihom, T. J. Subfertility and assisted reproduction techniques are associated with poorer cardiometabolic profiles in childhood. *Reproductive Biomedicine Online* 2013;26: 258-267.
- Sutcliffe, A. G., Peters, C. J., Bowdin, S., Temple, K., Reardon, W., Wilson, L., Clayton-Smith, J., Brunton, L. A., Bannister, W. i Maher, E. R. Assisted reproductive therapies and imprinting disorders - A preliminary British survey. *Human Reproduction* 2006;21: 1009-1011.
- Tee, L., Lim, D. H., Diaz, R. R., Baudeaux, M. O., Slater, A. A., Kirby, G., Hancock, T., Stewart, H., Hardy, C., Macdonald, F. i Maher, E. R. Epigenetic profiling in Beckwith-Wiedemann syndrome: relationship with assisted reproductive technology. *Clinical Epigenetics* 2013;5: 23, 1-10.
- Valenzuela, C. El riesgo de malformaciones congénitas i defectos de la programación genómica, en relación con las técnicas de reproducción asistida y la clonación. *Revista Médica de Chile* 2005;133: 1075-1080.
- Valenzuela-Alcaraz, B., Orpí, F., Bijl, R., Cruz-Lemini, M., Creus, M., Sílger, M., Barróns, J., Ovico, S., Balach, J. i Gestad, E. Assisted reproductive technologies are associated with cardiovascular remodeling in utero that persists postnatally. *Circulation* 2013;128: 1442-1450.
- Vergow, C. G., Koster, E. H., Doezjans, E., Hompes, P. G. A., Lambalk, C. B. i Schatt, R. The influence of the type of embryo culture medium on neonatal birthweight after single embryo transfer in IVF. *Human Reproduction* 2012;27: 2019-2026.
- Williams, C. L., Burch, K. J., Stillie, C. A., Murphy, M. F. G., Botting, B. J., Wallace, W. H., Davies, M. i Sutcliffe, A. G. Cancer risk among children born after assisted conception. *The New England Journal of Medicine* 2013;369: 1819-1827.
- Wu, S. C. i Zhang, Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 2012;13: 607-620.